Aus dem Pharmakologischen Institut in Marburg
Direktor: Prof. Dr. med. W. Schmid

Zur Frage einer maximalen Glukuronidbildung in der Leber

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Zahnheilkunde
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Klaus Rübig

Zahnarzt aus Kassel

Marburg 1969
1968

Fotodruck von Erich Mauersberger in Marburg

Aus dem Pharmakologischen Institut in Marburg
Direktor: Prof. Dr. med. W. Schmid

Zur Frage einer maximalen Glukuronidbildung in der Leber

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Zahnheilkunde
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Klaus Rübig
Zahnarzt aus Kassel

Marburg 1969

Fotodruck von Erich Mauersberger in Marburg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 16.12.1968

gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan : Prof. Dr. med. W. Straub

Referent : Prof. Dr. med. W. Schmid

Korreferent : Prof. Dr. med. et med. dent. H. Heuser

M e i n e n E l t e r n
i n D a n k b a r k e i t g e w i d m e t

Herrn Professor Dr. W. Schmid danke ich recht herzlich für die Anregungen und die großzügige Unterstützung bei der Arbeit.

Herrn Professor Dr. Dr. H. Heuser danke ich vielmals für die Übernahme des Korreferates.

Fräulein R. Schieferstein danke ich für ihre freundliche Hilfe bei der Gestaltung der graphischen Darstellungen.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung	1
B. Methodik	2
1. Tiermaterial und Applikationsweisen	2
2. Versuchsanordnung	2
3. Glukuronidbestimmung in Galle und Urin	3
4. Statistische Berechnung	5
C. Versuchsergebnisse	6
1. Glukuronidausscheidung bei nicht vorbehandelten Tieren (Normaltiere)	6
2. Glukuronidausscheidung bei Infusion von Einzelsubstanzen	7
a) Chloralhydrat	7
b) Phenol	12
c) Natriumsalizylat	16
d) Menthol	18
3. Glukuronidausscheidung bei gleichzeitiger Infusion von mehreren Substanzen (Kombinationsversuche)	19
a) Phenol und Menthol	20
b) Chloralhydrat und Phenol	22
c) Chloralhydrat, Phenol und Menthol	22
D. Diskussion	23
E. Zusammenfassung	25
F. Literaturverzeichnis	26

Anhang: Tabellen 1 bis 31

A. Einleitung

Unter den Entgiftungsmechanismen für Fremdstoffe im Organismus des Warmblüters spielen die Kopplungsreaktionen eine große Rolle. Mit ihrer Hilfe werden aus Substanzen mit großem Verteilungskoeffizienten ($\frac{\text{Lipid}}{\text{Wasser}}$) Produkte mit guter Wasserlöslichkeit gewonnen und auf diese Weise nierengängig gemacht.

Im Zusammenhang mit toxischen Wirkungen von Fremdsubstanzen ist sicher die Frage der Leistungsfähigkeit der koppelnden Systeme von großer Bedeutung. Bei ihrem Versagen oder nach Überschreiten ihrer Leistungsfähigkeit würden die Wirkstoffspiegel schlagartig ansteigen und damit erhöhte Wirkungsverstärkung eintreten können. Für die Sulfatkopplung sind solche Limitierungen vor allem durch die Untersuchungen von WILLIAMS bekannt. Sie liegen weniger in der Aktivität der Transferasen als im Schwefelpool, der nicht mehr genügend Schwefel für die Sulfatbildung zur Verfügung stellen kann, begründet. Für die Glukuronidkopplung ist diese Erscheinung nicht bekannt. Nach vielen Befunden sieht es so aus, als ob die Glukuronidkopplung auch bei starker Schädigung des Leberparenchyms noch in vollem Umfang abläuft und erst bei stärkster Schädigung gesenkt wird. Nach neueren Untersuchungen von HASSELBLATT scheint das Insulin für die Glukuronidbildung von Bedeutung zu sein. Insulinzufuhr hemmt nach seinen Befunden die Bildung von aktiver Glukuronsäure aus ihrer Vorstufe, der Uridindiphosphat-Glukose, während die Transferase unbeeinflußt bleibt.

In Fortsetzung vorausgegangener Untersuchungen in unserem Institut (SPRÖGGEL, KÜHNEL, KASSABIAN, PANKE) beschäftigt sich die vorliegende Arbeit hauptsächlich mit der Frage der Limitierung der Glukuronidbildung durch Zufuhr von glukuronidbildenden Fremdstoffen. Um die schwer übersehbaren Verhältnisse der Resorption nach subkutaner Applikation der Substanzen zu vermeiden, wurde als Applikationsform die intravenöse Dauerinfusion an der narkotisierten Ratte gewählt. Bei dieser Applikationsform war am ehesten mit einer konstanten Glukuronidbildung zu rechnen. Um die Gesamtglukuronidbildung zu erfassen, wurden sowohl die Galle als auch der Urin durch Dauerkatheter gewonnen.

Als Glukuronidbildner wurden die schon früher benutzten Stoffe Chloralhydrat und Natriumsalizylat sowie Phenol und in einigen Versuchen auch Menthol verwendet.

B. Methodik

1. Tiermaterial und Applikationsweise der Substanzen

Die Versuche wurden mit weiblichen Albinoratten vom Stamm Wistar mit einem Gewicht von 280-360 g durchgeführt. Als Nahrung diente standardisiertes Preßfutter der Firma Latz und Wasser. Die Tiere wurden mit einer intraperitonealen Injektion von 0,8 g/kg Urethan narkotisiert. Das am Menschen als schwach bekannte Schlafmittel Urethan erweist sich im Tierversuch als ein zur Narkose gut geeignetes und von Nebenwirkungen auf Atmung und Kreislauf freies Mittel.

Die zu untersuchenden Substanzen gaben wir in Gramm pro Kilogramm Körpergewicht und zwar als Dauerinfusion über 4 1/2 oder 6 Stunden. Während der Infusion wurde den Tieren mit der Schlundsonde noch Aquadest. zugeführt (4 ml zu Versuchsbeginn und vor jeder 1 1/2-Std.-Periode abermals 4 ml).

2. Versuchsanordnung

In jedem Versuch kamen 4 Tiere zur Verwendung. Sie wurden in Rückenlage mit gespreizten Beinen auf einem für diese Versuche hergestellten Operationstisch festgebunden. Dieser Tisch wurde mit Hilfe eines Wasserdurchlaufs auf einer konstanten Temperatur von 37,5 Grad C gehalten. Zur Bestimmung der Glukuronide benötigten wir Galle sowie Urin. Den Urin gewannen wir mittels eines Dauerkatheters, der durch die Harnröhre in die Blase eingeführt wurde. Wir verwendeten hierfür PVC-Schlauch mit einem äußeren Durchmesser von 1,5 mm. Zur Gewinnung der Galle mußten wir das Abdomen eröffnen. Da Ratten keine Gallenblase haben, banden wir einen angespitzten PVC-Schlauch (1,5 mm Durchm.) in den Ductus choledochus ein. Galle und Urin wurden in Portionen von 1 1/2 Std. in Reagenzgläsern gesammelt.

Die Infusion der Prüflösungen erfolgte in eine Femoralvene. Diese wurde nach einem Hautschnitt auf der Innenseite des Oberschenkels von der Kniebeuge in Richtung Unterbauch (etwa 7 cm lang) mit Hilfe von 2 kleinen gebogenen Pinzetten freipräpariert. Wir schnitten die Vene V-förmig ein und banden in den vom Schnitt zentralwärts gelegenen Teil einen angespitzten PVC-Schlauch (1,5 mm Durchm.) ein. Peripher von der Schnittstelle legten wir eine Ligatur um die Vene. Für die Infusion benutzten wir ein Gerät der Firma Braun/ Melsungen (III. C. 216.), auf das 4 Infusionsspritzen montiert waren. Das Volumen jeder Spritze betrug 5 ml. Die Stempelgeschwindigkeit war so eingestellt, daß 1,43 ml/Std. an Flüssigkeit ausgetrieben wurden. Entsprechend wurden bei 4 1/2-stündiger Infusion 6,44 ml und bei 6-stündiger Infusion 8,6 ml Lösung infundiert.

3. Glukuronidbestimmung in Galle und Urin

a) Reagenzien:

aa) 0,1 %ige Lösung von Carbazol (Carbazolum purum in absolutem Äthylalkohol gelöst). Die Lösung ist im Kühlschrank längere Zeit haltbar. Nach bläulich-grauer Verfärbung darf sie nicht mehr verwendet werden!
bb) 0,1 %ige Standardlösung von Glukuronsäurelacton
cc) konzentrierte Schwefelsäure (p.a.)

b) Bestimmungsvorgang:

Einen ml eines 1:20 bis 1:400 verdünnten Urins (bzw. Galle) im Methanolbad in einem Schliffreagenzglas gefrieren!

Vorsichtig 6 ml konz. Schwefelsäure zusetzen!

20 Min. in kochendem Wasserbad hydrolysieren! Abkühlen lassen auf Zimmertemperatur !

Zusetzen von 0,2 ml der 0,1 %igen Carbazollösung und gut durchschütteln(5 bis 10 Sek.) ! 2 Std. stehenlassen!

Es bildet sich eine rosa bis violette Farbe aus.

Nach genau 2 Std. muß die Extinktion im Spektral-Photometer (Zeiss PMQ II) bei einer Wellenlänge von 525 m gemessen werden (Küvette: 2 cm).

c) Eichkurve für Glukuronsäurelacton:

Aus einer 0,1 %igen Glukuronsäurelactonlösung wird eine Verdünnungsreihe so hergestellt, daß in 1 ml des Ansatzes 5 bis 60 γ Glukuronsäurelacton enthalten sind. Dieser Ansatz wird entsprechend dem oben beschriebenen Bestimmungsvorgang behandelt. Die Mittelwerte der an verschiedenen Tagen gemessenen Extinktionen werden in Abhängigkeit zu den γ-Mengen Glukuronsäurelacton in ein Koordinatensystem eingetragen. Man erhält eine Kurve, die dem Lambert-Beerschen Gesetz gehorcht. (s. Abb. 1)

Bei jeder Glukuronidbestimmung von Galle (bzw. Urin) behandelten wir zur Kontrolle einen Glukuronsäurelactonwert (20γ/ml) mit, der einen Extinktionswert von 0,3 ergeben mußte.

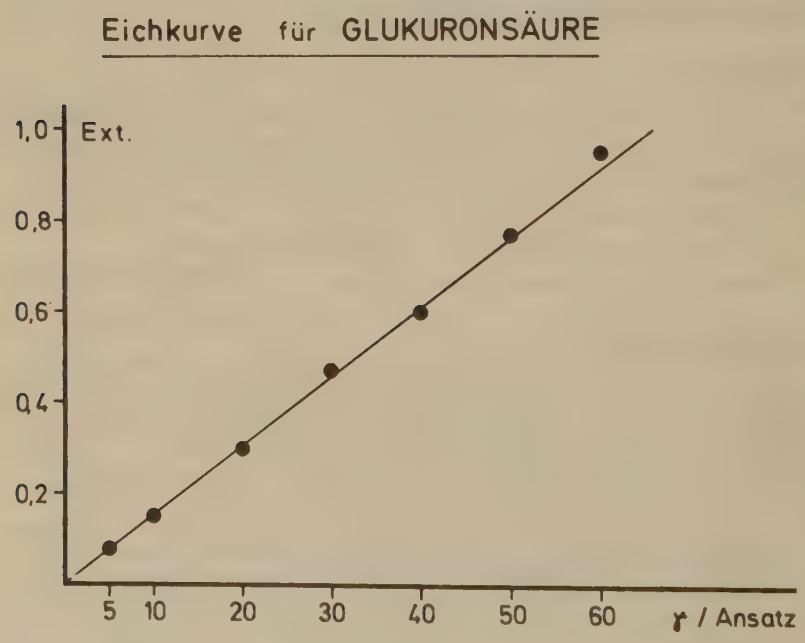


Abb. 1 Eichkurve für Glukuronsäure (0,1 ≙ 6,7 γ)

d) Berechnung der ausgeschiedenen Glukuronsäuremenge:

Die gemessene Extinktion wird mit der Urin- bzw. Gallemenge (in ml) einer 1 1/2 - Std. - Periode und dem Faktor der Eichkurve multipliziert. Das Ergebnis entspricht der während der Versuchsperiode ausgeschiedenen Menge Glukuronsäure in mg:

E × F × ml Urin(Galle) = mg ausgeschiedene Menge Glukuronsäure

$$F = \text{Faktor} = \frac{\text{Verdünnungsgrad}}{0{,}015}$$

Nach der Eichkurve entspricht 1 γ Glukuronsäure einer Extinktion von 0,015.
Der Verdünnungsgrad richtet sich nach der Menge, die man aus der Galle (bzw.Urin) für einen Bestimmungsvorgang entnimmt.

4. Statistische Berechnung:

Um unsere Versuchsergebnisse statistisch zu sichern, bedienten wir uns der Berechnung der t-Verteilung nach STUDENT. Nach Ermittlung des Mittelwertes M einer Versuchsreihe wird zunächst die mittlere Abweichung der Einzelwerte bestimmt und zwar nach folgender Gleichung:

$$\sigma^2 = \frac{\Sigma \Delta x^2}{n-1} \qquad \text{oder} \qquad \sigma = \sqrt{\frac{\Sigma \Delta x^2}{n-1}}$$

Die mittlere Abweichung des Mittelwertes ist danach:

$$Sm^2 = \frac{\sigma^2}{n} \qquad \text{oder} \qquad Sm = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

Ein Ergebnis gilt dann als statistisch gesichert, wenn die mittlere Abweichung der Differenz zweier Mittelwerte größer ist als 3 nach der Beziehung:

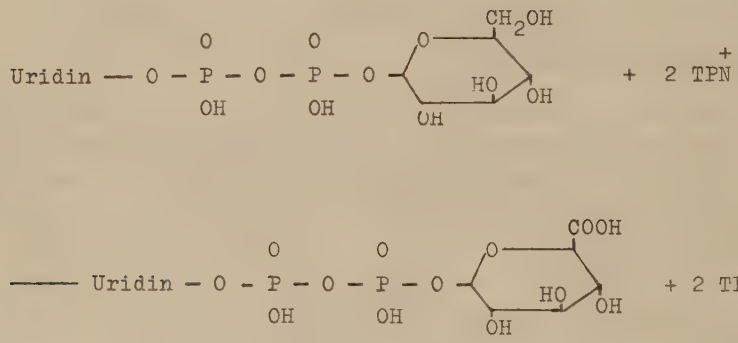
$$t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{Sm_1^2 + Sm_2^2}} = > 3$$

Die Signifikanz wird nach einer Tabelle abgelesen, aus der sich bei einem p-Wert von 0,001 eine Wahrscheinlichkeit von 99,9 % ergibt. Als Sicherheitsgrenze für biologische Untersuchungen wurde festgelegt: $p = 0{,}005$

C. Versuchsergebnisse

1. Glukuronidausscheidung bei nicht vorbehandelten Tieren (Normaltiere)

Die Glukuronsäure kommt nicht frei vor sondern wird im intermediären Stoffwechsel bei der Oxydation des Glukose-1-phosphats zu Uridin-diphosphat-glukuronsäure (UDPGsr) zur Verfügung gestellt. Sie kann zum Aufbau der Chondroitinschwefelsäure und anderer Bindegewebsbestandteile verwendet werden. Außerdem schützt sie den tierischen Organismus durch Kopplung vor der Giftwirkung von Indoxyl, Phenol und Kresol, die bei der Eiweißfäulnis im Dickdarm entstehen. Nach der Resorption werden diese Stoffe mit der Glukuronsäure zu unschädlichen Verbindungen gepaart und durch die Nieren eliminiert.

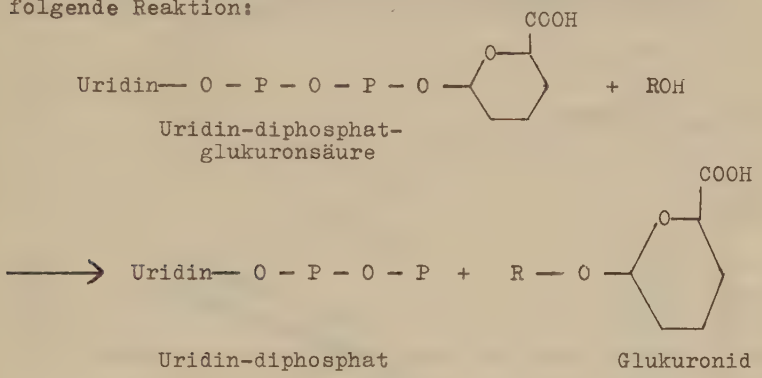


Unsere Versuche mit Normaltieren ergaben eine Glukuronidausscheidung von 0,9 mg/Std. Die Versuche dauerten jeweils 6 Stunden und zeigten eine erstaunlich gleichmäßige Ausscheidung. Die Schwankungen von Tier zu Tier betrugen ± 20 %. In Parallelität zu den späteren Versuchen mit Medikamenten erhielten die Normaltiere eine Dauerinfusion von 1,43 ml/Std. einer 0,9 %igen Kochsalzlösung. (siehe Tab. 1)

2. Glukuronidausscheidung bei Infusion von Einzelsubstanzen

Die Glukuronsäure bildet zur Entgiftung mit einer Anzahl von körperfremden, organischen Verbindungen, die zu therapeutischen Zwecken verwendet werden, ebenfalls gepaarte Glukuronsäuren, die harnfähig sind. In dieser Form werden teilweise Chloralhydrat, Kampfer, Menthol, Morphin, Natriumsalizylat, Phenol und andere körperfremde Substanzen ausgeschieden.

Gepaarte Glukuronsäuren entstehen allgemein durch die folgende Reaktion:



a) Chloralhydrat

Chloralhydrat ist als sehr guter Glukuronidbildner bekannt. Es wird im Organismus leicht zu Trichloräthylalkohol reduziert und dieser an Glukuronsäure gekoppelt als Urochloralsäure mit dem Urin ausgeschieden. Nur ein geringer Teil erscheint unverändert oder als Trichloressigsäure im Urin.

Im Dosenbereich von 0,05 g/kg bis 0,3 g/kg wurde das Chloralhydrat von den Tieren gut vertragen. Da die Tiere narkotisiert und festgebunden waren, war es nicht möglich, eine Vertiefung der narkotischen Wirkung festzustellen. Bei 0,4 g/kg/6 Std. gingen etwa 25 % der Tiere während des Versuchs ein. Bei einzelnen dieser Tiere konnten wir vorher eine Abflachung und Verlangsamung der Atmung feststellen, so daß anzunehmen ist, daß sie an einer medullären Lähmung zugrundegingen.

Bei allen Chloralhydratdosen war die Urinmenge in den ersten 1 1/2 Stunden nach Beginn der Infusion sehr gering. Häufig fand überhaupt keine Urinproduktion statt. Erst in den weiteren 1 1/2 - Std.- Perioden kam die Diurese in Gang. Mit einigen Ausnahmen war sie dann ziemlich konstant. Der Gallefluß war von Anfang an über die Versuchsdauer hin gleichmäßig.

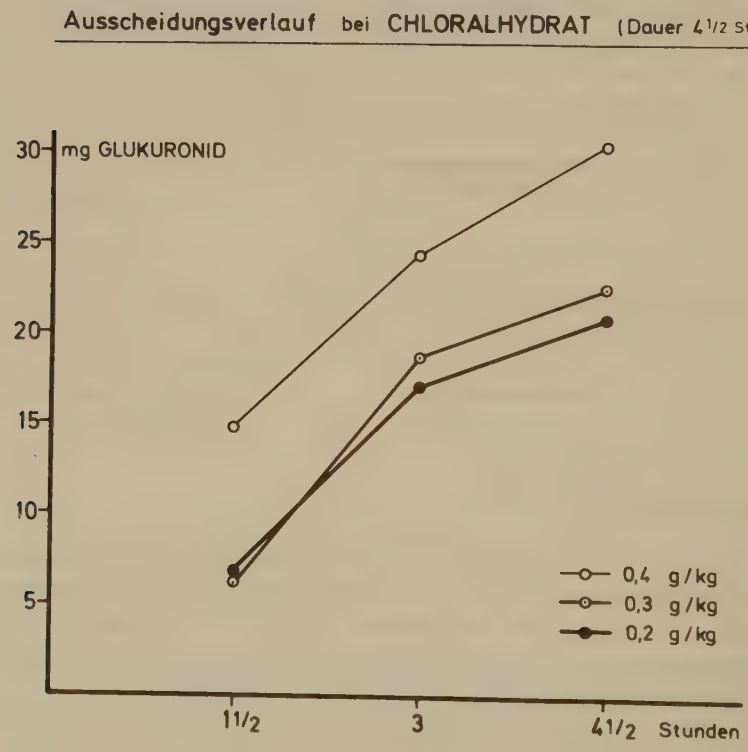


Abb. 2 Darstellung der Glukuronidausscheidung bei verschiedenen Dosierungen
Die eingezeichneten Werte geben an, wieviel Glukuronid in der jeweils vorausgegangenen 1 1/2 - Std. - Periode gebildet und durch Galle sowie Urin ausgeschieden wurde.

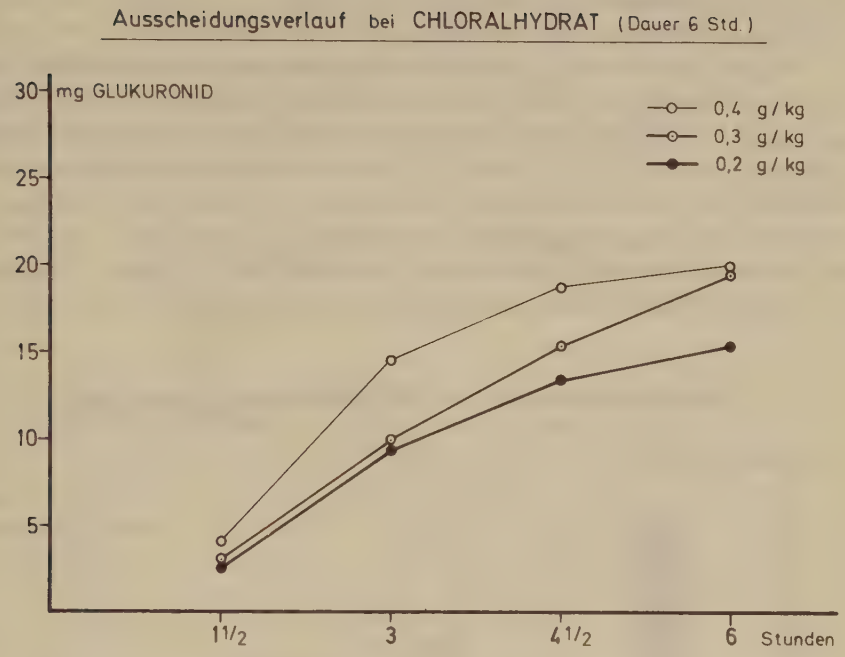


Abb. 3 siehe Legende zu Abb.2

Der Verlauf der Glukuronidausscheidung bei den verschiedenen Dosierungen ist in Abb.2 und 3 dargestellt und in den Tab. 2 bis 11 aufgeführt. Es zeigt sich, daß entsprechend den minimalen Urinmengen während der ersten 1 1/2 Stunden übereinstimmend die Glukuronidausscheidung noch sehr gering war. Bemerkenswert ist aber, daß trotz der geringen Urinmengen die Konzentration des Glukuronids nicht sehr hoch liegt. (siehe Tab. 31) Nach Ingangkommen der Diurese war der 2. Abnahmewert wesentlich höher und steigerte sich noch bis zur 3. Abnahme. Erst bei der 4. Abnahme zeigen alle Kurven eine Tendenz zum waagrechten Verlauf. (siehe Abb. 3)

Bei allen Konzentrationen wurden auch durch die Galle vermehrt Glukuronide ausgeschieden, wobei eine deutliche Abhängigkeit von der Größe der Dosis bestand.Im übrigen war die Glukuronidmenge

über alle Abnahmen hin gleichmäßig. Insgesamt ist die mit der Galle ausgeschiedene Menge bei allen Dosierungen etwa 1/10 des Harnwertes. (siehe Tab. 2 bis 11)

Wenn man die ausgeschiedene Glukuronidmenge in Galle und Urin mit der infundierten Chloralhydratdosis in Beziehung bringt, zeigt sich, daß während der Infusion nur 40-50 % als Glukuronid ausgeschieden wurden. (siehe Tab.31) Darin besteht ein auffallender Gegensatz zu vorausgegangenen Versuchen, bei denen die Substanzen subkutan gegeben worden waren. Dort schien schon nach 4 1/2 Std. die verabreichte Dosis weitgehend ausgeschieden zu sein. (siehe Diss. PANKE) Aus diesem Grunde wurde von uns eine weitere Versuchs-

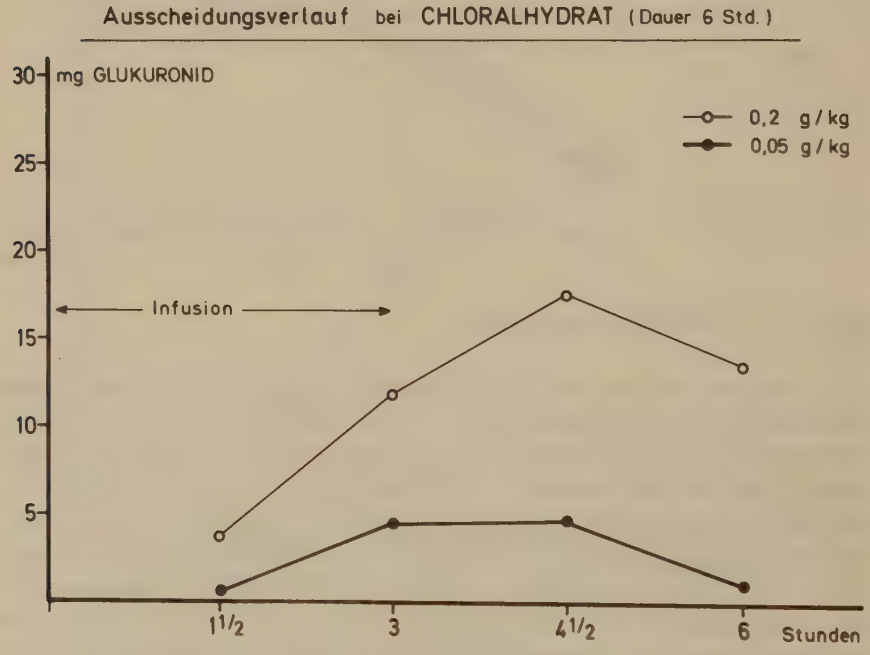


Abb. 4 Darstellung zweier Abbruchversuche
Im Gegensatz zu Abb.3 wurden bei diesen Versuchen die Infusionen nach 3 Std. beendet, während Galle und Urin über zwei weitere 1 1/2- Std.- Perioden gesammelt wurden

serie angesetzt, bei der die Infusion nach 3 Stunden abgebrochen wurde und Galle sowie Urin für weitere 3 Stunden gesammelt wurden. Dabei zeigte sich, daß bei den Dosen von 0,05 g/kg und 0,2 g/kg die Glukuronidausscheidung nach Beendigung der Infusion nicht abfiel sondern gleich blieb und sogar noch anstieg und erst dann deutlich zurückging. (siehe Abb.4 und Tab. 8 u. 9)

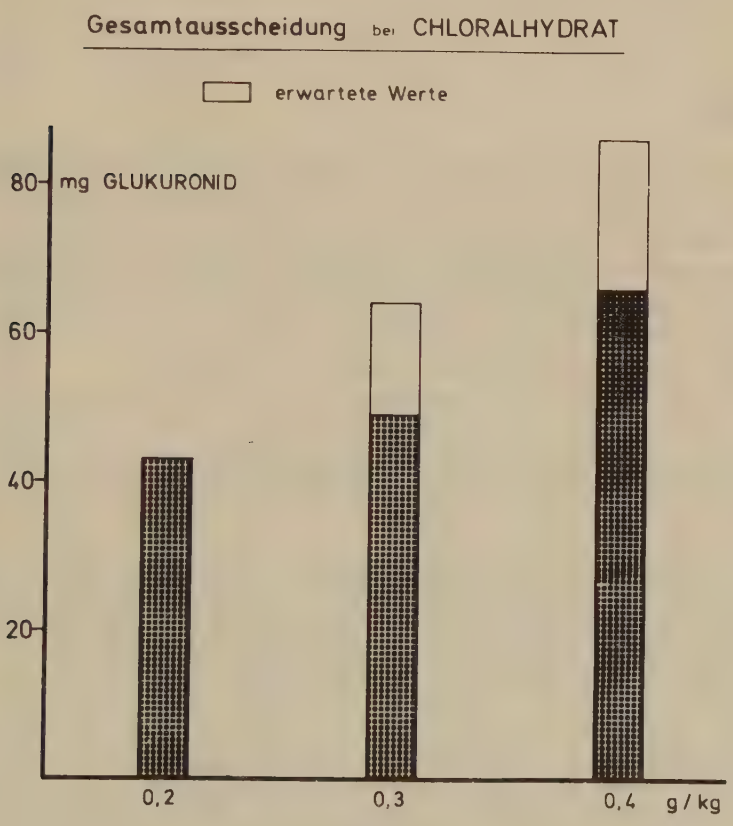


Abb. 5 Gegenüberstellung der ausgeschiedenen Gesamtmengen von Glukuronid bei verschiedenen Dosierungen. Die erwarteten Werte ergeben sich durch Addition der Glukuronidmengen, die in Bezug auf die Ausgangsdosis zu erhoffen waren.

In einer dritten Versuchsserie wurde der Einfluß der Glukose auf die Glukuronidbildung bei Infusion von Chloralhydrat untersucht. Dabei bekamen die Tiere zusammen mit der Testsubstanz noch 2,7 g/kg Glukose infundiert, nachdem ihnen 30 Min. vor Versuchsbeginn 5 ml einer 10 %igen Glukoselösung mit der Schlundsonde appliziert worden waren. Die Werte dieser Serie zeigen eindeutig, daß Glukose keinen Einfluß auf die Glukuronidbildung hat.
(siehe Tab. 10 und 11)

b) Phenol

Phenol wird - wie schon lange bekannt ist und durch eigene Versuche bestätigt wurde - bei Gabe kleiner Dosen vorwiegend als Sulfat mit dem Urin ausgeschieden. Mit steigenden Dosen nimmt jedoch der Anteil des Glukuronids zu, wobei die Sulfatkonjugation bei einem festen Maximalwert stehenbleibt. Das heißt, daß bei höheren Phenoldosen die Sulfatkonjugation ausgelastet ist, und daß dann die Glukuronidkopplung vikariierend eintritt.

In den vorliegenden Versuchen wurde nur die Glukuronidausscheidung bestimmt. Aus den Abb. 6 und 7 und den Tab. 12 bis 16 geht hervor, daß bei kleinen Phenoldosen im Bereich von 0,025 g/kg und 0,05 g/kg bei 6-stündiger Infusion die Glukuronidausscheidung geringfügig ist. Erst bei der Dosis von 0,1 g/kg in 6 Std. ist eine gewisse Vermehrung der Glukuronidausscheidung festzustellen. Bei weiterer Erhöhung der Dosis auf 0,1 g/kg in 4 1/2 Std. und besonders bei 0,2 g/kg in 4 1/2 Std. ist nach 3 Std. eine Steigerung der Glukuronidausscheidung zu beobachten; und zwar ist die Ausscheidung deutlich höher als der Steigerung der Dosis entspricht. Das würde bedeuten, daß bei 0,2 g/kg in 4 1/2 Std. die Glukuronidierung über die Sulfatkopplung überwiegt.

Auch durch die Galle wurde bei allen Werten etwas Glukuronid ausgeschieden. Wie bei der Urinausscheidung ist hier eine gewisse Abhängigkeit von der Dosis festzustellen. Bei den kleinen Dosen von 0,025 g/kg und 0,5 g/kg ist es jedoch eher umgekehrt. (siehe Tab. 14 und 15) Eine sichtbare Steigerung ist hingegen bei Dosen ab o,1 g/kg in 4 1/2 Std. zu beobachten. (siehe Tab. 12 und 13)

Ausscheidungsverlauf bei PHENOL (Dauer 4 1/2 Std)

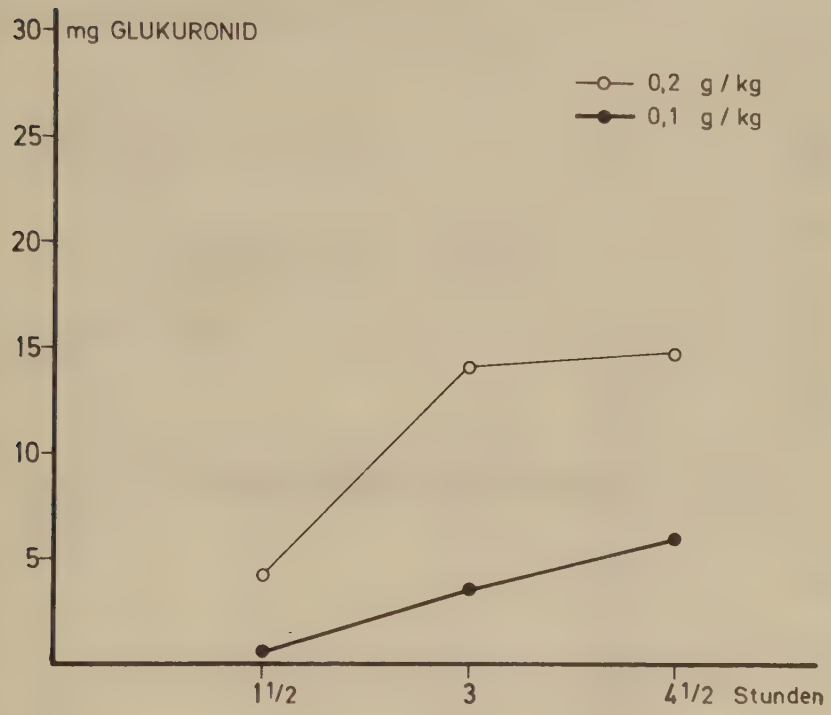


Abb.6 Darstellung der Glukuronidausscheidung bei verschiedenen Dosierungen
Die eingezeichneten Werte geben an, wieviel Glukuronid in der jeweils vorausgegangenen 1 1/2-Std.-Periode gebildet und durch Galle sowie Urin ausgeschieden wurde.

Wie beim Chloralhydrat wurde auch beim Phenol die Glukuronidausscheidung in einer Versuchsserie nach Abbruch der Infusion geprüft. Auch hier wurden in der ersten 1 1/2-Std.-Periode nach Infusionsende noch hohe Glukuronidwerte gefunden. Sie gingen jedoch bei allen Dosen nach weiteren 1 1/2 Std. nahezu auf Null zurück. (siehe Abb.8 und Tab. 17 und 18)

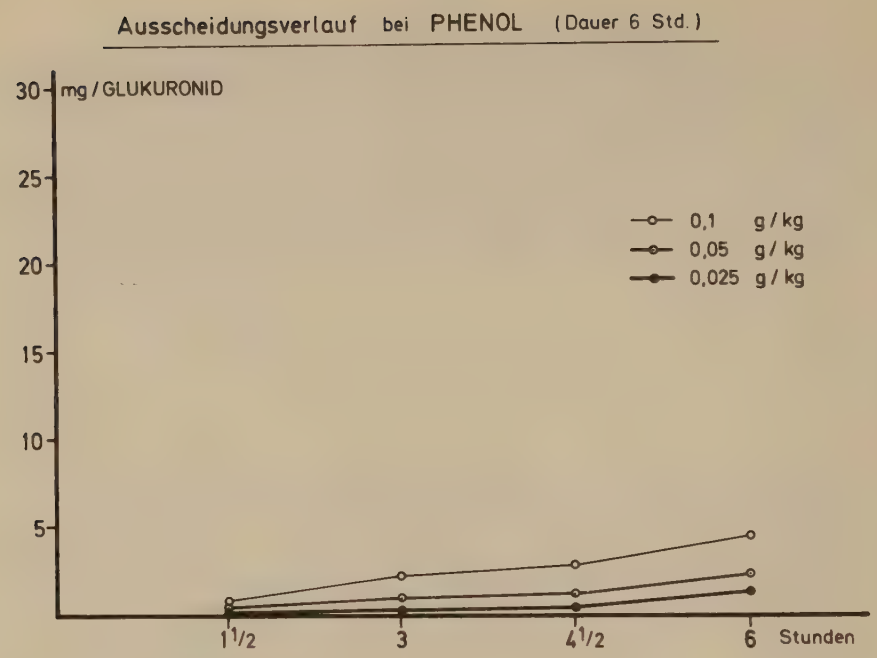


Abb. 7 siehe Legende zu Abb.6

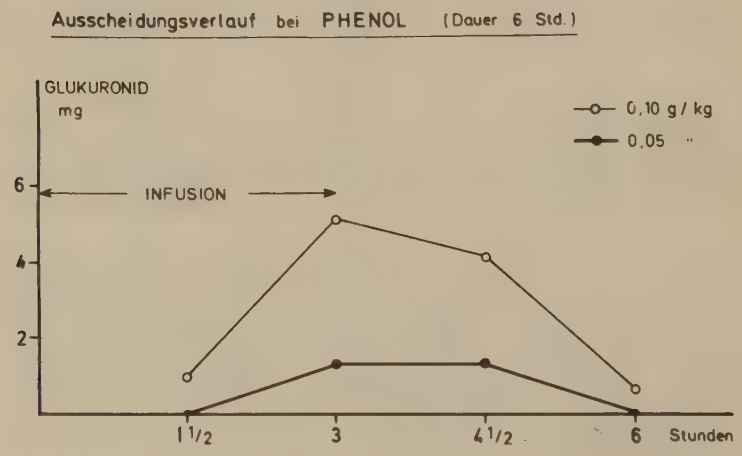


Abb. 8 Darstellung zweier Abbruchversuche (s.Legende zu Abb.4)

In einer abschließenden Versuchsserie konnten wir nachweisen, daß auch beim Phenol die Glukose keinen sichtbaren Einfluß auf die Glukuronidbildung ausübt. Die Versuche hierzu wurden in gleicher Weise durchgeführt wie beim Chloralhydrat.

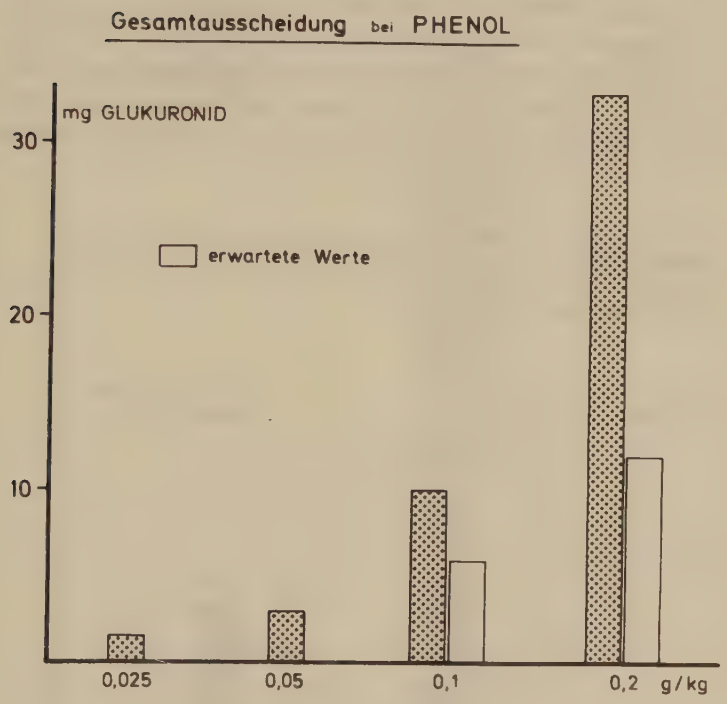


Abb. 9 Gegenüberstellung der ausgeschiedenen Gesamtmengen von Glukuronid bei verschiedenen Dosierungen
Die erwarteten Werte ergeben sich durch Addition der Glukuronidmengen, die in Bezug auf die Ausgangsdosis theoretisch zu erwarten waren.

c) Natriumsalizylat

Beim Natriumsalizylat sind neben der Ausscheidung von freiem, unveränderten Salizylat 3 Möglichkeiten der Kopplung bekannt: 1. an Schwefelsäure, 2. an Aminosäuren (z.B. Glykokoll), 3.an Glukuronsäure. Der Anteil der verschiedenen Kopplungsreaktionen wechselt von Tierart zu Tierart.

Im Vergleich zur subkutanen Applikation bei früheren Versuchen ist die Glukuronidausscheidung bei der von uns verwendeten Dosis von o,1 g/kg in 6 Std. außerordentlich gering. Sie liegt bei 5 %. (siehe Abb. 10 und Tab.20) Bei der Dosis von 0,2 g/kg in 6 Std. steigt die Glukuronidausscheidung erheblich an. Sie ist hier fast doppelt so hoch als der Steigerung der Dosis entspricht. (siehe Abb.10 und Tab. 21) Es ergaben sich ähnliche Verhält-

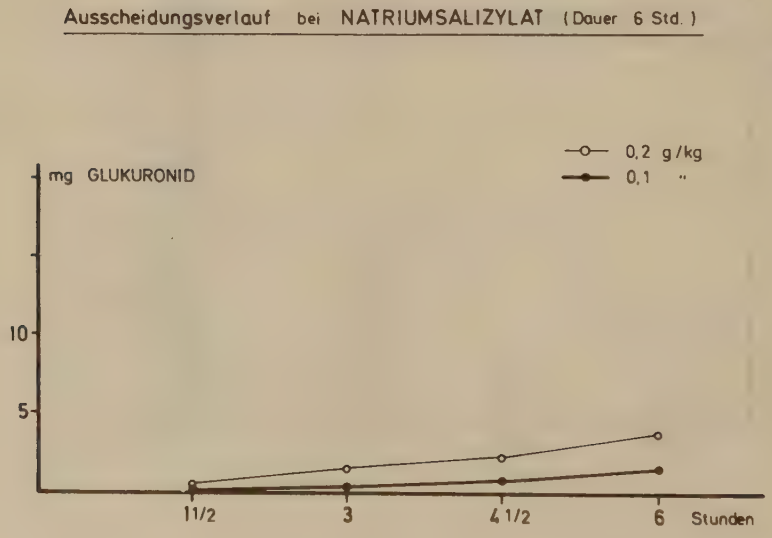


Abb.10 Darstellung der Glukuronidausscheidung bei verschiedenen Dosierungen
Die eingezeichneten Werte geben an, wieviel Glukuronid in der jeweils vorausgegangenen 1 1/2-Std.-Periode gebildet und durch Galle sowie Urin ausgeschieden wurde.

nisse vikariierend steigender Glukuronidbildung wie beim Phenol. Im Vergleich zum Phenol ist die Glukuronidausscheidung durch die Galle bei den niederen Dosen deutlich größer. Trotzdem ist die Gesamtausscheidung geringer als beim Phenol. (siehe Abb. 11)

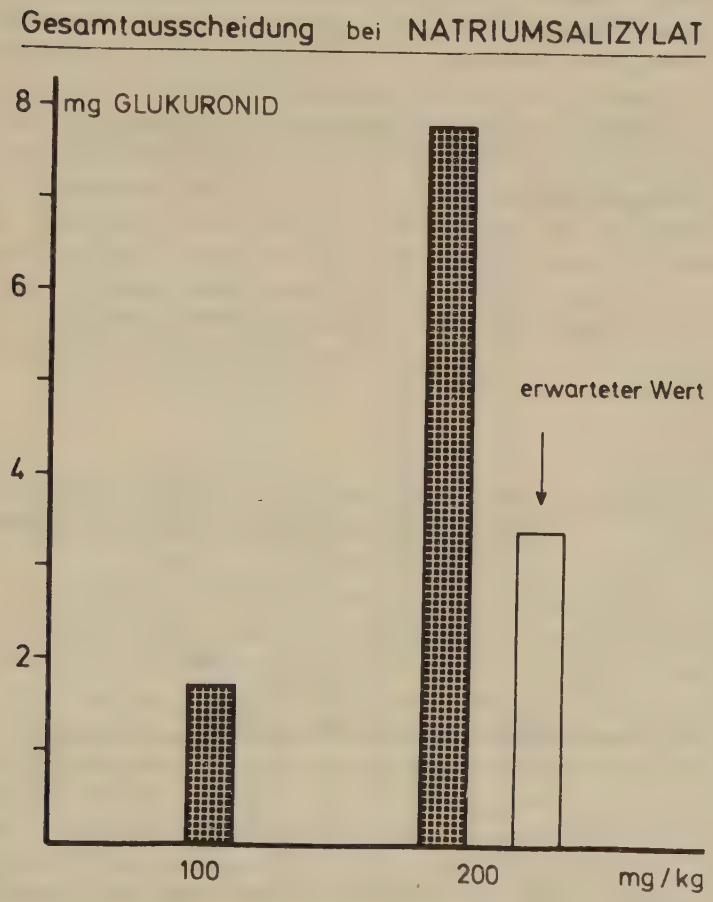


Abb. 11 Gegenüberstellung der ausgeschiedenen Gesamtmengen von Glukuronid bei verschiedenen Dosierungen(siehe Legende zu Abb.9)

d) Menthol

Menthol gehört zu den Substanzen, die rasch und stark an Glukuronsäure gekoppelt werden. Die Ausscheidung der Glukuronide scheint von Tierart zu Tierart verschieden zu sein. Vom Mensch ist bekannt, daß er Menthol praktisch vollständig durch den Harn ausscheidet.

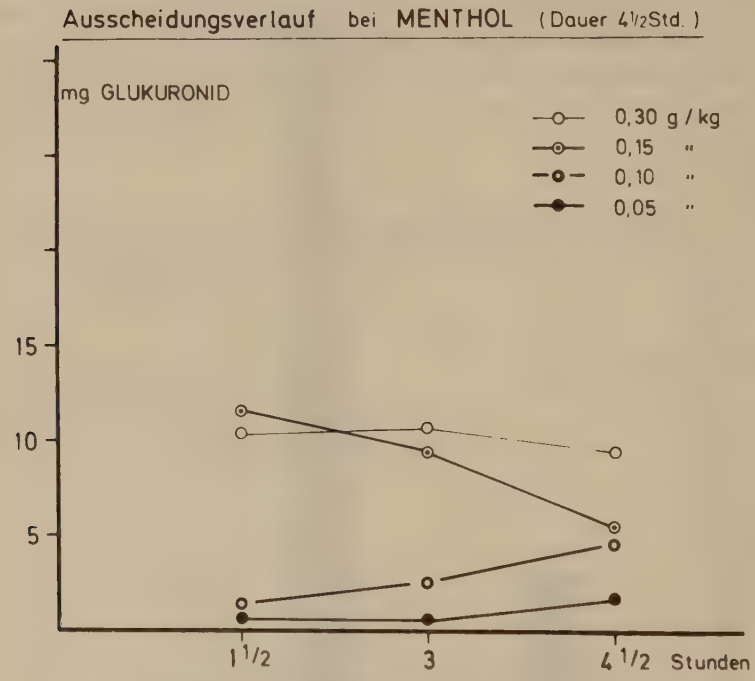


Abb. 12 Darstellung der Glukuronidausscheidung bei verschiedenen Dosierungen
Die Dosen 0,3 g/kg und 0,15 g/kg wurden intraperitoneal appliziert, während die Dosen 0,1 g/kg und 0,05 g/kg infundiert wurden.

Nach unseren Versuchen an der Ratte wird es bei dieser Tierart zu einem wesentlichen Teil durch die Galle ausgeschieden. Menthol wurde in einer Versuchsreihe in Substanz als feines Pulver in die Bauchhöhle zwischen die Darmschlingen gestreut. Dabei wurden keine zusätzlichen resorptiven Wirkungen beobachtet. In einer weiteren Serie wurde es in 10 %iger alkoholischer Lösung infundiert

Die Gesamtglukuronidausscheidung war bei den beiden Applikationsformen deutlich verschieden. Bei der intraperitonealen Applikation war sie bei vergleichbaren Dosen wesentlich höher und betrug bis zu 40 % der gegebenen Mengen. Bei der Infusion von 0,05 g/kg war auch nach 3 Std. die Gesamtglukuronidausscheidung noch sehr niedrig. Erst nach 4 1/2 Std. nahm sie etwas zu. In jedem Fall überwog aber die mit der Galle ausgeschiedene Glukuronidmenge bei intraperitonealer Applikation und bei der Infusion kleiner Mentholdosen die im Harn auftretende um etwa das 5-fache. Bei größeren Infusionsdosen hingegen (0,1 g/kg) erreichte die mit dem Urin ausgeschiedene Menge einen höheren Anteil (45 %).
(siehe Abb. 12 und Tab. 22 bis 27)

3. Glukuronidausscheidung bei gleichzeitiger Infusion von mehreren Substanzen (Kombinationsversuche)

Aus den Werten mit den Einzelsubstanzen geht hervor, daß bei Chloralhydrat die höchsten Glukuronidmengen erreichbar sind. Bei der Dosis von 0,4 g/kg in 4 1/2 Std. haben wir einen Glukuronidwert von 72 mg pro Tier erreicht. Damit wurden 47 % des gegebenen Chloralhydrats an Glukuronsäure gekoppelt ausgeschieden. Bei den Kombinationsversuchen wurde so vorgegangen, daß einmal bei den Einzelsubstanzen Dosen gewählt wurden, bei denen additive Werte zu erwarten waren; zum anderen wurden Dosen gewählt, bei denen der Chloralhydrathöchstwert von 72 mg per additionem theoretisch erheblich überstiegen werden konnte.

a) Phenol und Menthol

Bei diesem Kombinationsversuch gaben wir das Phenol intravenös als Dauerinfusion, während das Menthol fein zerrieben in die Bauchhöhle gebracht wurde. Die Phenol-Menthol-Kombination verhält sich in einem Bereich von etwa 60 mg erwarteter Glukuronidausscheidung additiv und erreichte praktisch den theoretischen Wert. (siehe Abb.14 a) Auffallend ist, daß bei dieser Kombination der Verlauf der Glukuronidausscheidung anders ist als der zu erwartenden Kurve entspricht. Dies ist auf eine Hemmung der Glukuronidausscheidung im Harn in den ersten 3 Std, zurückzuführen. Trotzdem wird in der Gesamtausscheidung die erwartete Glukuronidmenge erzielt. (siehe Abb. 13 und Tab. 29)

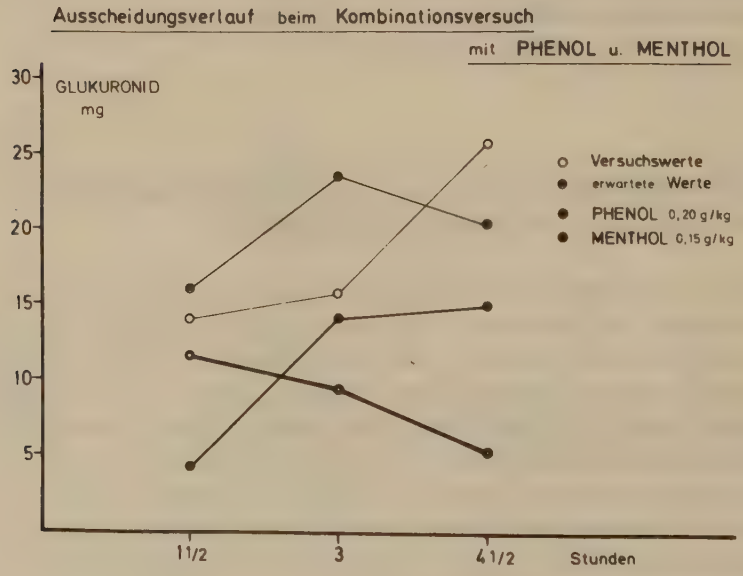


Abb. 13 Darstellung der Glukuronidausscheidung beim Kombinationsversuch mit Phenol und Menthol und deren Einzelglukuronidausscheidung

Gesamtausscheidung bei Kombinationsversuchen

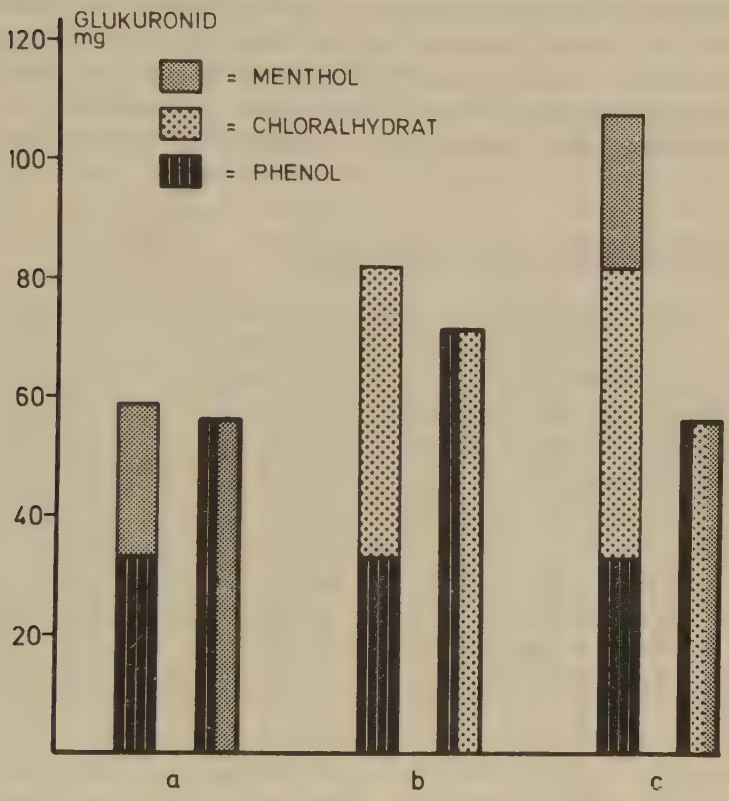


Abb. 14 Vergleich von 3 Kombinationsversuchen (a,b,c)
Die links dargestellten Säulen ergeben sich durch theoretische Addition von Glukuronidwerten bei entsprechenden Versuchen mit den Einzelsubstanzen. Die rechten Säulen zeigen die tatsächlichen Werte, die bei Kombination der Substanzen mit den gleichen Dosen erzielt wurden

b) Chloralhydrat und Phenol

Eine Kombination von Phenol und Chloralhydrat verhält sich weitgehend additiv, wenn Dosen gegeben werden, die eine Gesamtglukuromidausscheidung von weniger als 70 mg theoretisch erwarten lassen. Wird bei der Kombination der Dosen der additiv errechnete Wert auf 80 - 90 mg erhöht, so ergibt der Versuch nur eine Glukuronidmenge von etwa 70 mg. (siehe Abb. 14 b und Tab. 28) Diese Menge ist identisch mit dem Chloralhydrathöchstwert.

c) Chloralhydrat, Phenol und Menthol

In Parallelität zum vorhergehenden Versuch wurde auch bei dieser Kombination das Menthol intraperitoneal als Pulver appliziert, während Phenol und Chloralhydrat als Dauerinfusion gegeben wurden. Bei der Kombination dieser 3 Substanzen wurde der theoretisch zu erwartende Wert auf etwa 110 mg Gesamtglukuronid erhöht. Erstaunlich ist nun, daß der im Versuch erhaltene Wert bei nur 60 mg stehenbleibt. (siehe Abb. 14c und Tab. 30) Es ist von Interesse, daß bei der Dreierkombination die Glukuronidausscheidung in der Galle im Bereich der Menge liegt, die bei Menthol allein zu erwarten war. Sie liegt insgesamt etwas höher, was aber durchaus zu erwarten ist, da ja auch bei Chloralhydrat und Phenol eine gewisse Ausscheidung durch die Galle stattfindet.

D. Diskussion

Gegenüber vorangegangenen Versuchen über die Glukuronidbildung und ihre Limitierung wurden in der vorliegenden Arbeit die Substanzen nicht subkutan sondern als intravenöse Dauerinfusion gegeben. Diese Modifikation der Applikationsform erfolgte aus der Überlegung, daß bei subkutaner Injektion die Resorptionszeit nicht übersichtlich ist und infolgedessen Schwierigkeiten für Bilanzen entstehen. Dieser Nachteil entfällt bei der intravenösen Infusion. Dabei war zu hoffen, daß sich bei der Glukuronidausscheidung ein Gleichgewichtszustand einstellte. Leider wurde gerade diese Erwartung - zumindest innerhalb der Versuchszeit von maximal 6 Stunden - nicht erfüllt. Für die zögernde Ausscheidung der Glukuronide durch den Harn dürfte eine wesentliche Ursache in der schlechten Urinproduktion während der ersten 1 1/2 Versuchsstunden zu suchen sein. Aber auch nach Ingangkommen der Diurese nach 3 Stunden mit etwa gleichbleibender Urinmenge bis zu 6 Stunden war keine Konstanz der Glukuronidausscheidung vorhanden. Diese stieg bis zum Versuchsende immer noch an, ließ allerdings in Abhängigkeit von der gegebenen Dosis ein mehr oder weniger deutliches Einbiegen auf konstante Werte erkennen. Trotz des initialen Nierenversagens bleibt eine so lange Einstellungszeit auffallend. Als Ursache dafür kommt wohl kaum allein eine entsprechende Dauer des Verteilungsgleichgewichts im Organismus in Frage. Auf der anderen Seite spielt sicher eine "Depotbildung" - vor allem bei Chloralhydrat - eine wichtige Rolle. Dies geht aus den Befunden hervor, daß nach Absetzen der Infusion die Glukuronidausscheidung zunächst für 1 1/2 Stunden gleichbleibt oder sogar noch ansteigt und erst danach langsam zurückgeht. Denkbar- aber wenig einleuchtend- wäre, daß die Glukuronidierung relativ lange Zeit für die Anpassung an die erforderlichen, hohen Mengen, die ein Vielfaches der physiologischen Glukuronidbildung ist, braucht. Gegen eine solche Annahme spricht, daß die Glukuronidausscheidung in der Galle von Anfang an regelmäßige Werte zeigt und Glukose ohne sichtbaren Einfluß ist.

Zur Frage der Limitierung der Glukuronidbildung läßt sich aus unseren Ergebnissen folgendes aussagen: Bei Chloralhydrat

wurde mit einer Dosis von 0,4 g/kg innerhalb von 4 1/2 Stunden eine Gesamtglukuronidausscheidung pro Tier von 72 mg erzielt. Umgerechnet auf die Dosis/Tier (bei einem durchschnittlichen Tiergewicht von 310 g) und unter Berücksichtigung der Molekulargewichte würde das bedeuten, daß während der Versuchszeit 49 % der verabreichten Chloralhydratdosis als Glukuronid in Urin und Galle ausgeschieden wurden. Eine weitere Steigerung der Chloralhydratdosis war leider wegen der zu erwartenden toxischen Atemlähmung nicht durchführbar. Bei keiner der anderen verwendeten Substanzen wurde dieser hohe Wert der Glukuronidbildung erreicht, auch nicht bei Menthol, das ebenfalls als starker Glukuronidbildner gilt. Glukosezufuhr führte auch bei ausgelasteter Glukuronidkopplung zu keiner Veränderung des Limitwertes.

Interessant sind in diesem Zusammenhang die Kombinationsversuche. Anhand der bei den Einzelsubstanzen erhaltenen Glukuronidwerte wurden Dosen kombiniert, die im Bereich der maximalen Glukuronidausscheidung von 72 mg bei Chloralhydrat lagen. Hierbei wurden additive Werte erreicht. Wurden die Dosen erhöht oder wurden Dreierkombinationen angewendet, bei denen nach Addition der Einzelwerte zwischen 80 und 110 mg Glukuronid zu erwarten waren, dann blieb die tatsächliche Glukuronidausscheidung bei Werten von 60 bis 70 mg stehen. Formal lassen diese Befunde den Schluß zu, daß die Glukuronidbildung ausgelastet werden kann und daß sie unter unseren Versuchsbedingungen bei etwa 70 mg ihren Grenzwert hat.

Bei Substanzen, für die verschiedene Kopplungsreaktionen bekannt sind, wie Phenol und Natriumsalizylat, konnte die schon von WILLIAMS beschriebene Tatsache, daß die Glukuronidkopplung mit steigender Dosis immer mehr in Anspruch genommen wird, bestätigt werden. Demnach ist beispielsweise die Sulfatkopplung bei Phenol und wohl auch bei Natriumsalizylat - bei diesem noch die Salizyluratkopplung - früher limitiert als die Glukuronidkopplung.

E. Zusammenfassung

1. An der narkotisierten Ratte wurde die Belastbarkeit der Glukuronidkopplung durch Chloralhydrat, Phenol, Natriumsalizylat und Menthol untersucht. Die Substanzen wurden in Form der intravenösen Dauerinfusion appliziert.
2. Die Glukuronidausscheidung in Galle und Urin bei der normalen Ratte liegt bei einem Stundenwert von 0,9 mg. Die Schwankungen von Tier zu Tier sind mit $\pm$ 20 % erheblich.
3. Glukuronidbildende Substanzen erhöhen die Glukuronidausscheidung in Harn und Galle dosenabhängig.
4. Bei Chloralhydrat wurde mit einer Dosis von 0,4 g/kg in 4 1/2 Std. eine maximale Glukuronidausscheidung von 72 mg erzielt. Zusätzliche Glukosegabe hatte auf die Glukuronidbildung keinen sichtbaren Einfluß.
5. Es wurden Kombinationsversuche von Chloralhydrat mit Phenol und Menthol durchgeführt. Dabei ergaben sich additive Effekte, wenn bei den Einzelsubstanzen Dosen gewählt wurden, die im Bereich der Glukuronidhöchstausscheidung bei Chloralhydrat allein liegen. Wurden hingegen Dosen gewählt, die nach theoretischer Addition der Einzelwerte die maximale Glukuronidausscheidung (von 72 mg bei Chloralhydrat) erheblich übersteigen, dann blieben die tatsächlichen Werte bei 60 bis 70 mg stehen.

F. Literaturverzeichnis

1. Dische Z. : "A new specific color reaction of hexuronic acids" Journ. of Biol. Chem. 167/189 (1947)

2. Gilette, J.R.: " Metabolism of Drugs and other Foreign Compounds by Enzymatic Mechanisms." Fortschr. d. Arzneimittelfschng.6/33(1963)

3. Kassabian, H.: "Verstärkung der Chloralhydratwirkung durch Salizylat,als Beitrag zur Frage der Interferenz von Arzneimittelwirkungen." Dissert. aus dem Pharm.Inst.in Marbg.(1965)

4. Kühnel, Th. : "Zur Frage der Belastbarkeit der Glukuronidkoppelung" Dissert. aus dem Pharmakolog. Inst. in Marburg (1963)

5. Leuthardt, F.: "Biochem. Grundlagen der Entgiftungsreaktionen." Arch. exp. Path. Pharm. 238/8

6. Leuthardt, F.: Lehrbuch der Biochemie 15. Aufl. S.300ff

7.Meyer,A.E. und Per Lee-Motter, R.: Die Bestimmung von Chloralhydrat und seinen Umsetzungsprodukten in Körperflüssigkeiten und Geweben. Arzneimittelforschung, 7. Jahrgang

8.Spröggel, E. : "Über die gegenseitige Beeinflußbarkeit der Entgiftung bei Arzneimittelkombinationen." Dissert. aus dem Pharmakolog. Institut in Marburg (1962)

9. Williams, R.T.: Nature Bd. 143 S. 641(1939)

A N H A N G

(Tabellen)

Tab. 1 Glukuronidausscheidung in mg bei nicht vorbehandelten Tieren (Normaltiere) in 1 1/2 - Std. - Portionen innerhalb von 6 Std.

Tier	Galle				Urin			
	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
1A	0,4	o,2	0,3	0,3	1,1	1,3	1,4	0,8
2A	0,2	0,2	0,2	0,2	1,7	1,3	1,0	0,8
3A	0,4	0,3	0,4	0,4	0,6	0,8	0,9	0,6
4B	0,3	0,3	0,3	0,2	1,2	1,1	0,9	0,7
5B	0,3	0,4	0,3	0,4	1,3	1,0	0,8	0,9
6B	0,2	0,3	0,4	0,3	1,5	1,2	1,5	1,1
Mw	0,3	0,3	0,3	0,3	1,2	1,1	1,1	0,8
Durchschnittliche Glukuronidmenge pro Tier innerhalb von 6 Std.: 5,4 mg (0,9 mg/Std.)								

Vorbemerkung : Die in den folgenden Tabellen eingetragenen Glukuronidwerte der einzelnen Tiere ergeben sich durch Subtraktion der Mittelwerte der Normaltiere (s. Tab. 1) von den tatsächlichen Versuchswerten. In der Rubrik " Tier " sind Versuchstiere eines Versuchs mit einem großen Buchstaben gekennzeichnet. Die Zahlen in der gleichen Rubrik sind die fortlaufenden Nummern jeweils einer Versuchsserie. Die Abkürzung Mw bedeutet Mittelwert. Die unter I., II., III. und IV. eingetragenen Werte geben an, wieviel mg Glukuronid in der jeweils vorausgegangenen 1 1/2 Std,- Periode durch Galle sowie Urin ausgeschieden wurden.

Tab. 2 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,2 g/kg Chloralhydrat innerh. von 4 1/2 Std.

Tier	Galle			Urin		
	I.	II.	III.	I.	II.	III.
1A	1,5	1,3	1,5	8,0	15,3	17,5
2A	1,8	1,7	2,0	7,6	18,4	19,3
3A	1,8	1,5	1,8	12,4	9,0	22,8
4A	1,5	1,8	2,3	1,0	19,2	16,3
5B	2,2	1,6	1,9	1,7	17,3	16,6
6B	1,3	1,0	1,5	2,6	16,9	20,5
7B	1,4	1,7	2,0	3,3	10,6	15,8
8B	1,6	1,9	2,2	5,1	17,2	23,1
Mw	1,6	1,6	1,9	5,2	15,5	19,0

Tab. 3 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,3 g/kg Chloralhydrat innerh. von 4 1/2 Std.

Tier	Galle			Urin		
	I.	II.	III.	I.	II.	III.
1A	1,5	2,3	2,3	10,6	18,5	31,7
2A	1,3	2,6	2,0	0,0	1,5	29,0
3A	1,5	2,0	1,5	5,4	26,8	21,3
4A	1,5	2,3	2,0	6,3	15,9	19,7
5B	1,6	2,0	2,2	0,7	17,6	20,3
6B	1,6	2,7	2,8	1,3	13,6	19,8
7B	1,5	2,7	1,4	5,0	20,9	21,7
8B	1,4	2,0	1,1	1,0	13,5	13,1
9C	1,6	3,1	2,6	7,5	21,1	22,6
10C	0,9	1,3	0,7	5,3	13,6	24,5
11C	1,6	1,6	2,4	8,1	19,9	22,0
12D	1,3	1,9	3,2	5,5	13,9	20,4
13D	1,3	2,7	3,9	5,5	17,8	28,5
Mw	1,4	2,2	2,2	4,7	16,5	22,8

Tab. 4 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,4 g/kg Chloralhydrat innerhalb von 4 1/2 Std.

Tier	Galle			Urin		
	I.	II.	III.	I.	II.	III.
1A	2,4	2,6	3,2	13,4	21,7	30,1
2A	1,6	2,3	2,9	13,1	16,4	17,3
3A	2,0	3,0	3,5	17,9	23,0	16,3
4A	1,5	3,1	3,7	6,8	21,0	29,1
5B	1,4	1,1	1,4	16,0	29,3	34,9
6B	1,7	1,8	2,4	14,4	25,3	28,8
7B	2,1	2,2	2,7	8,3	25,2	44,7
8C	2,2	2,5	2,8	11,6	20,0	28,3
9C	1,6	1,4	2,6	15,0	23,5	30,8
10C	2,8	2,5	3,4	10,3	26,2	35,6
Mw	1,9	2,3	2,8	12,7	23,0	29,6

Tab. 5 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,2 g/kg Chloralhydrat innerhalb von 6 Std.

Tier	Galle				Urin			
	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
1A	0,7	0,8	1,3	0,8	1,0	5,8	13,6	14,6
2A	1,2	1,3	1,3	1,4	0,9	5,6	10,6	13,3
3A	1,0	1,2	1,4	1,4	2,0	12,5	13,9	14,4
4A	0,5	0,6	0,6	0,5	0,8	6,1	10,0	14,6
5B	1,2	1,1	1,1	1,2	0,9	5,9	11,2	14,8
6B	1,1	1,0	0,8	0,4	0,2	7,1	7,7	10,2
7B	1,0	1,4	1,1	0,9	0,7	9,0	9,9	11,6
8B	0,8	0,7	1,1	1,1	1,1	6,2	11,3	13,5
9C	1,4	1,2	1,7	1,5	0,3	10,5	11,5	11,9
10C	0,6	0,3	0,4	0,7	3,2	9,3	9,8	11,4
11C	0,9	1,7	1,3	1,5	0,3	8,2	13,9	17,6
12C	1,7	1,8	2,7	1,4	0,6	8,9	7,1	19,7
13D	1,3	1,4	0,9	0,7	5,8	10,3	15,9	14,8
14D	1,1	1,5	1,6	1,4	0,0	6,0	15,2	9,2
15D	0,7	1,7	1,7	1,3	0,6	7,9	7,9	16,8
16E	0,5	0,6	0,5	0,7	1,8	7,9	15,5	16,2
17E	1,4	1,2	1,1	1,1	8,0	15,3	19,1	14,7
18E	1,0	1,5	1,2	1,4	2,3	8,8	15,1	17,6
Mw	1,0	1,2	1,2	1,1	1,7	8,4	12,2	14,3

Tab. 6 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,3 g/kg Chloralhydrat innerhalb von 6 Std.

Tier	Galle				Urin			
	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
1A	1,0	1,6	2,2	2,0	3,3	7,8	12,6	13,9
2A	1,4	1,8	1,6	1,6	1,9	9,6	12,0	17,2
3A	1,0	1,6	1,6	1,6	1,7	8,3	12,1	16,4
4A	1,2	1,4	0,3	0,4	4,1	6,4	13,4	14,5
5B	0,9	1,1	1,4	1,1	4,5	6,0	12,5	18,0
6B	0,6	0,9	0,3	0,3	5,5	10,0	9,0	21,8
7B	1,1	1,7	1,6	1,6	0,4	10,2	17,6	23,6
8B	0,6	1,2	1,2	1,2	2,7	8,8	10,7	16,0
9C	0,2	0,6	0,8	0,4	2,0	4,5	13,7	19,0
10C	0,9	1,2	1,3	1,5	0,0	5,3	12,1	14,5
11C	1,1	2,0	1,8	1,8	0,0	6,3	19,4	17,0
12C	0,6	1,6	1,3	1,2	0,1	5,6	12,4	21,1
13D	0,7	0,9	1,2	0,6	4,3	8,3	10,9	24,7
14D	0,9	0,6	0,7	0,4	5,7	6,3	19,0	16,5
15D	0,4	0,5	1,1	0,7	0,8	8,5	21,8	19,0
16D	1,3	1,3	1,3	0,8	3,1	12,7	21,3	18,3
17E	0,6	0,5	0,5	0,4	1,5	4,3	12,9	34,2
18E	1,4	1,5	1,8	1,4	2,1	10,3	12,7	15,1
19E	1,2	1,2	1,0	0,8	3,4	10,3	10,3	19,4
Mw	0,9	1,2	1,2	1,0	2,4	7,9	14,1	19,0

Tab. 7 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,4 g/kg Chloralhydrat innerhalb von 6 Std.

Tier	Galle				Urin			
	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
1A	0,7	0,7	0,6	1,0	2,2	21,4	21,7	22,5
2A	1,0	1,4	1,5	1,2	4,9	21,2	13,9	27,5
3A	0,9	1,8	1,3	2,3	0,0	11,5	19,9	26,9
4B	1,0	0,9	1,2	1,0	8,0	17,1	14,5	18,1
5B	0,8	1,2	1,1	0,2	6,2	14,6	19,8	27,7
6B	1,3	2,0	2,5	2,4	9,2	12,5	14,4	15,4
7C	2,4	2,0	2,6	2,0	6,4	13,9	15,4	14,2
8C	2,0	2,7	3,3	3,5	1,4	1,1	3,7	10,2
9C	2,1	2,4	3,0	3,4	0,0	10,5	16,9	15,1
Mw	1,4	1,7	1,9	1,9	4,0	13,7	15,6	19,7

Tab. 8 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,05 g/kg Chloralhydrat innerhalb von 6 Std. (Die Infusion wurde nach 3 Std. abgebrochen.)

Tier	Galle				Urin			
	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
1A	0,2	0,3	0,5	0,2	0,6	6,6	7,9	3,1
2A	0,6	1,1	0,9	0,3	1,2	7,8	7,1	1,7
3A	0,3	0,5	0,6	0,2	0,6	6,0	7,0	2,0
4B	0,6	0,5	0,3	0,2	0,0	2,4	5,0	0,8
5B	0,1	0,3	0,2	0,0	0,5	2,1	2,1	0,1
6B	0,3	0,3	0,2	0,0	0,0	3,1	4,5	0,1
7C	0,2	0,3	0,5	0,3	0,0	0,0	0,0	0,3
8C	0,4	0,3	0,2	0,0	1,4	4,0	0,9	0,0
9C	0,2	0,4	0,3	0,1	1,8	5,6	4,1	0,9
Mw	0,3	0,4	0,4	0,1	0,3	4,1	4,3	1,0

Tab. 9 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,2 g/kg Chloralhydrat innerhalb von 6 Std. (Die Infusion wurde nach 3 Std. abgebrochen.)

Tier	Galle				Urin			
	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
1A	1,1	1,2	1,3	1,0	1,8	4,1	14,9	12,6
2A	0,5	0,6	1,0	1,1	3,0	13,6	17,9	13,0
3A	1,0	1,1	1,1	0,6	1,9	13,0	15,6	14,5
4B	0,6	1,3	1,4	1,0	4,4	11,7	15,1	10,9
5B	1,2	1,2	1,6	1,1	3,1	13,1	17,0	14,1
6B	0,8	1,1	1,5	0,9	4,9	8,6	15,7	9,4
Mw	0,9	1,1	1,3	1,0	3,2	10,7	16,0	12,4

Tab. 10 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,3 g/kg Chloralhydrat, 2,7 g/kg Glukose und 5 ml 10 %iger Glukose peroral (30 Min. vor Versuchsbeginn appliziert) pro Tier

Tier	Galle				Urin			
	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
1A	0,2	0,5	0,7	0,4	0,9	6,9	17,4	17,8
2A	0,5	1,3	1,1	1,4	1,0	8,5	12,0	17,0
3A	0,7	1,2	1,5	1,3	1,1	5,9	13,8	18,3
4A	1,0	2,0	1,9	3,0	1,4	7,5	11,4	18,3
5B	0,9	1,8	2,0	2,0	2,6	9,0	13,5	21,0
6B	0,6	0,8	1,1	1,6	0,3	8,7	10,7	14,4
7B	0,7	0,8	0,7	1,2	2,2	12,8	13,0	15,4
8B	1,1	0,9	0,8	0,7	0,2	8,8	19,6	17,2
9C	1,2	1,3	1,5	1,4	4,0	8,5	14,1	16,7
10C	1,1	1,2	1,3	1,1	0,0	5,3	7,8	17,4
11C	0,9	1,7	1,9	2,1	0,8	13,5	13,8	21,6
12C	0,7	1,3	1,7	1,8	4,3	12,1	16,6	21,4
Mw	0,8	1,2	1,4	1,5	1,5	8,9	13,6	18,0

Tab. 11 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,4 g/kg Chloralhydrat und 2,7 g/kg Glukose und 5 ml 10 %iger Glukose pro Tier peroral (30 Min. vor Versuchsbeginn appliziert) innerhalb von 6 Std.

Tier	Galle				Urin			
	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
1A	1,0	1,9	2,0	1,7	6,6	16,5	13,6	16,5
2A	1,4	2,4	2,9	2,3	2,4	14,9	24,3	22,7
3A	1,1	2,0	1,9	2,0	1,1	9,0	15,4	9,7
4B	1,1	2,2	3,2	3,4	1,1	6,6	19,4	18,3
5B	1,0	2,7	4,0	3,6	0,0	9,8	12,1	6,3
6B	1,6	1,4	1,3	0,9	6,3	9,7	23,6	17,0
Mw	1,2	2,1	2,6	2,3	2,7	11,1	18,0	15,1

Tab. 12 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,2 g/kg Phenol innerhalb von 4 1/2 Std.

Tier	Galle			Urin		
	I.	II.	III.	I.	II.	III.
1A	0,7	1,3	1,7	0,2	8,8	11,8
2A	0,7	1,3	1,4	0,0	9,2	11,6
3A	0,7	1,1	0,7	2,5	10,6	11,1
4A	0,6	1,0	0,9	3,7	11,2	8,0
5B	1,4	2,6	2,7	1,9	14,0	18,7
6B	1,2	1,8	2,3	6,3	18,5	18,6
7B	1,0	1,2	1,3	4,8	16,2	15,5
Mw	0,9	1,5	1,6	3,4	12,6	13,3

Tab. 13 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,1 g/kg Phenol innerhalb von 4 1/2 Std.

Tier	Galle			Urin		
	I.	II.	III.	I.	II.	III.
1A	0,7	1,6	0,7	1,9	6,1	5,2
2A	0,3	0,5	0,5	0,4	4,9	4,1
3A	0,3	0,4	0,3	0,8	3,9	5,7
4A	0,3	0,5	0,0	2,2	5,5	4,0
5B	0,3	0,2	0,7	0,0	4,1	5,3
6B	0,6	0,8	0,8	0,0	2,3	5,0
7B	0,3	0,4	0,3	1,1	5,2	2,9
8B	0,3	0,2	0,4	0,0	3,1	6,3
9C	0,3	0,5	0,7	0,2	2,5	6,3
10C	0,3	0,4	0,6	1,1	1,7	6,0
11C	0,4	0,4	0,7	0,3	2,7	7,3
12C	1,1	1,1	1,6	0,0	1,3	8,4
13D	0,5	0,3	0,4	0,0	2,0	3,7
14D	0,3	0,4	0,4	0,0	1,2	6,1
15D	0,4	0,3	0,4	0,0	0,9	4,7
Mw	0,4	0,5	0,6	0,1	3,2	5,4

Tab. 14 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,05 g/kg Phenol innerhalb von 6 Std.

Tier	Galle				Urin			
	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
1A	0,5	0,5	0,3	0,4	0,0	2,4	0,5	4,3
2A	0,3	0,3	0,2	0,1	0,0	1,3	1,5	1,9
3A	0,4	0,3	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	1,4
4A	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	1,9	0,9
Mw	0,3	0,3	0,2	0,2	0,0	0,7	0,9	2,1

Tab. 15 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,025 g/kg Phenol innerhalb von 6 Std.

	Galle				Urin			
Tier	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
1A	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,7
2A	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,3	0,9
3A	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,9	0,6
4B	0,3	0,4	0,2	0,3	0,6	0,8	0,7	2,0
5B	0,3	0,1	0,1	0,0	0,2	0,4	0,2	3,0
6B	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3
Mw	0,2	0,2	0,1	0,0	0,0	0,1	0,3	1,3

Tab. 16 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,1 g/kg Phenol innerhalb von 6 Std.

	Galle				Urin			
Tier	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
1A	0,7	0,6	0,5	0,8	1,2	1,4	2,9	5,3
2A	0,7	0,2	0,4	0,6	0,0	0,7	1,0	3,6
3A	0,6	0,6	0,4	0,4	0,0	0,0	1,4	6,0
4A	0,8	0,6	0,6	0,4	0,0	0,7	1,9	2,1
5B	0,5	0,3	0,3	0,1	0,1	5,2	2,8	2,0
6B	0,1	0,0	0,2	0,8	1,7	3,3	0,4	0,9
7B	0,8	0,8	0,9	0,6	1,1	2,7	3,0	5,4
8B	0,2	0,3	0,4	0,3	0,7	2,0	3,8	3,4
Mw	0,6	0,4	0,5	0,5	0,6	2,0	2,2	3,6

Tab. 17 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,05 g/kg Phenol innerhalb von 6 Std.
(Die Infusion wurde nach 3 Std. abgebrochen.)

Tier	Galle				Urin			
	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
1A	0,2	0,2	0,1	0,1	0,0	1,0	0,2	0,0
2A	0,0	0,1	0,2	0,1	0,0	0,7	3,1	0,3
3A	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,5	2,8	0,3
4B	0,0	0,3	0,2	0,0	1,6	4,2	0,8	0,6
5B	0,2	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0
6B	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0
Mw	0,0	0,2	0,1	0,0	0,0	1,1	1,2	0,0

Tab. 18 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,1 g/kg Phenol innerhalb von 6 Std.
(Die Infusion wurde nach 3 Std. abgebrochen.)

Tier	Galle				Urin			
	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
1A	0,4	0,7	0,4	0,2	0,0	3,5	6,3	0,5
2A	0,2	0,7	0,4	0,1	2,0	8,6	1,8	0,0
3A	0,2	0,5	0,5	0,2	1,3	4,9	2,7	0,0
4A	0,6	0,3	0,1	0,3	0,0	1,1	4,3	1,0
Mw	0,4	0,6	0,4	0,2	0,6	4,5	3,7	0,4

Tab. 19 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,1 g/kg Phenol und 2,7 g/kg Glukose und 5 ml 10 %iger Glukose pro Tier peroral (30 Min. vor Versuchsbeginn appliziert) innerhalb von 6 Std.

	Galle				Urin			
Tier	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
1A	0,5	0,3	0,3	0,5	0,0	1,6	5,3	5,1
2A	0,9	0,5	0,5	0,3	0,0	0,0	0,3	2,6
3A	0,5	0,3	0,2	0,3	1,8	1,6	1,0	4,0
4B	0,2	0,2	0,3	0,2	0,0	0,0	0,6	6,4
5B	0,5	0,6	0,6	0,5	0,5	2,8	2,7	1,8
6B	0,7	0,7	0,7	0,5	1,0	2,4	4,6	4,5
Mw	0,5	0,4	0,4	0,4	0,6	1,4	2,4	4,1

Tab. 20 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,1 g/kg Natriumsalizylat innerhalb von 6 Std.

	Galle				Urin			
Tier	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
1A	0,1	0,1	0,2	0,4	0,0	0,0	0,6	1,1
2A	0,2	0,1	0,1	0,0	0,0	0,5	0,4	1,3
3A	0,1	0,1	0,1	0,2	0,0	0,0	0,4	1,1
4B	0,1	0,3	0,3	0,4	0,0	0,0	0,5	1,2
5B	0,0	0,2	0,2	0,5	0,0	0,2	0,8	1,6
6B	0,3	0,3	0,2	0,1	0,0	0,0	0,3	0,5
Mw	0,1	0,2	0,2	0,3	0,0	0,0	0,5	1,3

Tab. 21 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,2 g/kg Natriumsalizylat innerhalb von 6 Std.

Tier	Galle				Urin			
	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
1A	0,1	0,3	0,3	0,7	0,0	1,4	1,8	2,9
2A	0,3	0,2	0,3	0,6	0,0	1,2	2,4	3,3
3A	0,3	o,5	0,8	1,0	0,3	0,8	1,7	3,4
4A	0,0	0,0	0,1	0,4	0,3	0,9	0,3	2,2
5B	0,3	0,5	0,5	0,8	0,0	1,1	2,9	2,6
6B	0,3	0,7	0,6	0,6	0,0	0,7	1,2	4,1
Mw	0,2	0,4	0,4	0,7	0,1	1,0	1,7	3,1

Tab. 22 Glukuronidausscheidung in mg nach intraperitonealer Gabe von 0,05 g/kg Menthol innerhalb von 4 1/2 Std.

Tier	Galle			Urin		
	I.	II.	III.	I.	II.	III.
1A	2,9	2,4	1,8	0,0	0,2	0,7
2A	1,4	2,2	1,3	0,0	1,7	1,4
3A	2,2	2,3	1,6	0,0	1,2	0,4
4A	3,1	3,0	2,3	0,0	0,0	0,0
Mw	2,4	2,5	1,8	0,0	0,8	0,5

Tab. 23 Glukuronidausscheidung in mg nach intraperitonealer Gabe von 0,1 g/kg Menthol innerhalb von 4 1/2 Std.

	Galle			Urin		
Tier	I.	II.	III.	I.	II.	III.
1A	1,9	4,0	2,5	0,0	0,8	0,4
2A	1,6	3,5	2,8	0,0	1,6	1,2
3A	3,1	5,4	3,9	0,0	0,7	0,6
4A	2,5	4,4	2,4	0,0	1,3	1,0
Mw	2,3	4,3	2,9	0,0	1,1	0,8

Tab. 24 Glukuronidausscheidung in mg nach intraperitonealer Gabe von 0,15 g/kg Menthol innerhalb von 4 1/2 Std.

	Galle			Urin		
Tier	I.	II.	III.	I.	II.	III.
1A	10,1	7,5	4,9	0,5	0,4	0,0
2A	9,5	7,7	4,7	2,9	2,4	0,6
3A	8,3	6,9	4,1	2,1	1,8	1,0
4A	10,9	8,5	5,5	2,5	2,0	0,4
Mw	9,7	7,7	4,8	2,0	1,7	0,5

Tab. 25 Glukuronidausscheidung in mg nach intraperitonealer Gabe von 0,3 g/kg Menthol innerhalb von 4 1/2 Std.

	Galle			Urin		
Tier	I.	II.	III.	I.	II.	III.
1A	8,5	10,1	8,3	0,0	0,6	1,2
2A	9,3	9,7	4,9	2,5	0,4	2,4
3A	7,1	8,3	6,7	1,3	1,6	1,0
4A	10,1	10,3	9,1	2,9	2,2	2,6
Mw	8,8	9,6	7,3	1,7	1,2	2,1

Tab. 26 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,05 g/kg Menthol innerhalb von 4 1/2 Std.

Tier	Galle			Urin		
	I.	II.	III.	I.	II.	III.
1A	0,7	0,5	0,9	0,0	0,0	0,3
2A	0,6	0,5	0,8	0,0	0,0	1,4
3A	0,9	0,7	0,6	0,0	0,3	1,7
4B	0,6	0,7	0,9	0,0	0,0	0,5
5B	0,7	0,6	0,6	0,0	0,1	1,1
6B	1,0	0,8	0,7	0,0	0,0	1,6
Mw	0,8	0,6	0,8	0,0	0,1	1,1

Tab. 27 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,1 g/kg Menthol innerhalb von 4 1/2 Std.

Tier	Galle			Urin		
	I.	II.	III.	I.	II.	III.
1A	1,6	1,6	1,4	0,0	0,2	4,4
2A	1,2	2,6	1,8	0,0	1,3	2,7
3A	0,9	1,5	1,1	0,0	0,5	2,6
4B	1,4	1,4	1,2	0,0	0,3	2,4
5B	1,4	2,8	2,0	0,0	1,4	3,0
6B	1,0	1,4	1,2	0,0	0,3	3,8
Mw	1,3	1,9	1,5	0,0	0,7	3,2

Tab. 28 Glukuronidausscheidung in mg während einer Infusion von 0,3 g/kg Chloralhydrat und 0,2 g/kg Phenol innerhalb von 4 1/2 Std.

	Galle			Urin		
Tier	I.	II.	III.	I.	II.	III.
1A	1,4	3,4	3,4	2,3	22,8	38,4
2A	3,2	3,9	4,3	10,1	34,5	38,2
3A	1,7	3,1	3,6	5,4	30,5	34,7
4A	1,6	2,9	3,6	7,8	25,8	36,0
5B	1,6	2,2	2,1	8,4	13,8	24,2
6B	3,3	2,1	3,5	15,3	31,2	15,7
7B	3,2	3,7	3,7	5,8	22,0	18,1
8C	4,9	5,7	6,1	19,0	24,8	35,8
9C	2,4	3,9	5,1	3,0	18,8	22,3
10C	1,3	1,3	1,1	15,6	30,5	35,3
11D	1,3	1,8	1,8	7,2	31,6	41,7
12D	1,7	3,3	3,0	3,3	6,0	33,0
13D	1,6	2,6	3,0	11,2	25,1	32,9
14E	2,5	6,0	10,1	4,3	17,0	24,8
15E	1,6	3,9	3,9	6,1	18,0	33,6
16E	1,7	6,8	7,5	10,9	22,8	19,6
Mw	2,2	3,5	4,1	8,5	23,4	30,3

Tab. 29 Glukuronidausscheidung in mg nach intraperitonealer Gabe von 0,15 g/kg Menthol und während einer Infusion von 0,2 g/kg Phenol innerh. von 4 1/2 Std.

	Galle			Urin		
Tier	I.	II.	III.	I.	II.	III.
1A	11,7	9,1	10,7	4,3	8,7	13,8
2A	11,1	8,8	10,0	2,4	6,6	14,2
3A	14,1	8,4	10,3	0,8	9,4	20,0
4A	12,0	9,9	8,8	0,1	2,5	15,0
Mw	12,2	9,1	9,9	1,8	6,8	15,8

Tab. 30 Glukuronidausscheidung in mg nach intraperitonealer Gabe von 0,15 g/kg Menthol und während einer Infusion von 0,3 g/kg Chloralhydrat und 0,2 g/kg Phenol innerhalb von 4 1/2 Std.

	Galle			Urin		
Tier	I.	II.	III.	I.	II.	III.
1A	10,6	12,0	12,8	5,0	6,9	9,4
2A	6,5	10,0	11,0	4,4	5,4	6,6
3A	11,1	11,2	12,2	3,6	8,8	12,7
4A	11,7	9,2	11,2	6,1	11,1	10,7
Mw	10,0	10,6	11,8	4,8	8,1	9,9

Tab. 31 Gesamtausscheidung bei verschiedenen Dosierungen (in mg und %) und Statistische Berechnung

Substanz	Dosis in mg/kg	Dosis in mg/Tier	Infusionsdauer (Std.)	Glukuronidmenge in mg	Glukuronidmenge in %	t	p
Chloralhydrat	200	68	4 1/2	45	56		
"	300	96	"	50	44	1,45	0,1
"	400	124	"	72	49	4,35	0,0005
"	200	68	6	41	51		
"	300	96	"	48	43	3,02	0,0025
"	400	124	"	60	41	2,48	0,01
Phenol	100	32	4 1/2	11	17		
"	200	60	"	33	26	4,9	0,0005
"	25	7,8	6	2,4	15		
"	50	16	"	5,0	15	1,53	0,1
"	100	33	"	10,4	15	2,55	0,025
Natriumsalizylat	100	33	6	2,6	7		
"	200	65	"	7,6	9	20,8	0,0005
Menthol	50	17	4 1/2	3,3	15		
"	100	32	"	8,4	21	22,2	0,0005

L e b e n s l a u f

Am 12. März 1938 wurde ich als zweites Kind des Zahnarztes Erwin Rübig und dessen Ehefrau Erna geb. Kliebisch in Kassel geboren. Durch Kriegseinwirkungen wurde ich mit meinen Eltern nach Wellerode, Ldkr. Kassel, evakuiert. Von 1945 bis 1949 besuchte ich die Volksschule. Von Ostern 1949 bis Ostern 1957 besuchte ich das Realgymnasium Wesertor (heute Goetheschule) in Kassel. Im März 1959 bestand ich die Reifeprüfung an der Freiherr-vom-Stein-Schule (Gymnasium für Jungen und Mädchen) in Hessisch Lichtenau.

Im Sommersemester 1959 begann ich mit dem Studium der Zahnheilkunde an der Universität in Marburg/Lahn, wo ich am 31.10. 1961 die Zahnärztliche Vorprüfung bestand. Im Sommersemester 1962 studierte ich an der Universität in Würzburg. Seit dem Wintersemester 1962/63 studierte ich wieder in Marburg. Dort bestand ich die Zahnärztliche Prüfung am 1. April 1965.

Vom April 1965 bis zum Juni 1966 arbeitete ich als Medizinalassistent in der väterlichen Praxis in Vollmarshausen, Ldkr. Kassel. Im Juni 1966 begann ich im Pharmakologischen Institut der Universität Marburg mit dem experimentellen Teil meiner Doktorarbeit, die ich im August 1968 fertigstellte.

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren Professoren und Dozenten :

in Marburg: Braun-Falco, Dimroth, Dölle, Gedigk, Hamel, Hennis, Hering, Heuser, Janke, Korb, Kottmeyer, Lang, Löhr, Marx, Maurath, Meyer, Niessing, Oksche, Pantke, Petry, Pfütz, Rosemann, Schiff, Schmid, Seidel, Siegert, Siess, Vogt, Walcher,

in Würzburg: Haunfelder, Mierau, Schlampp